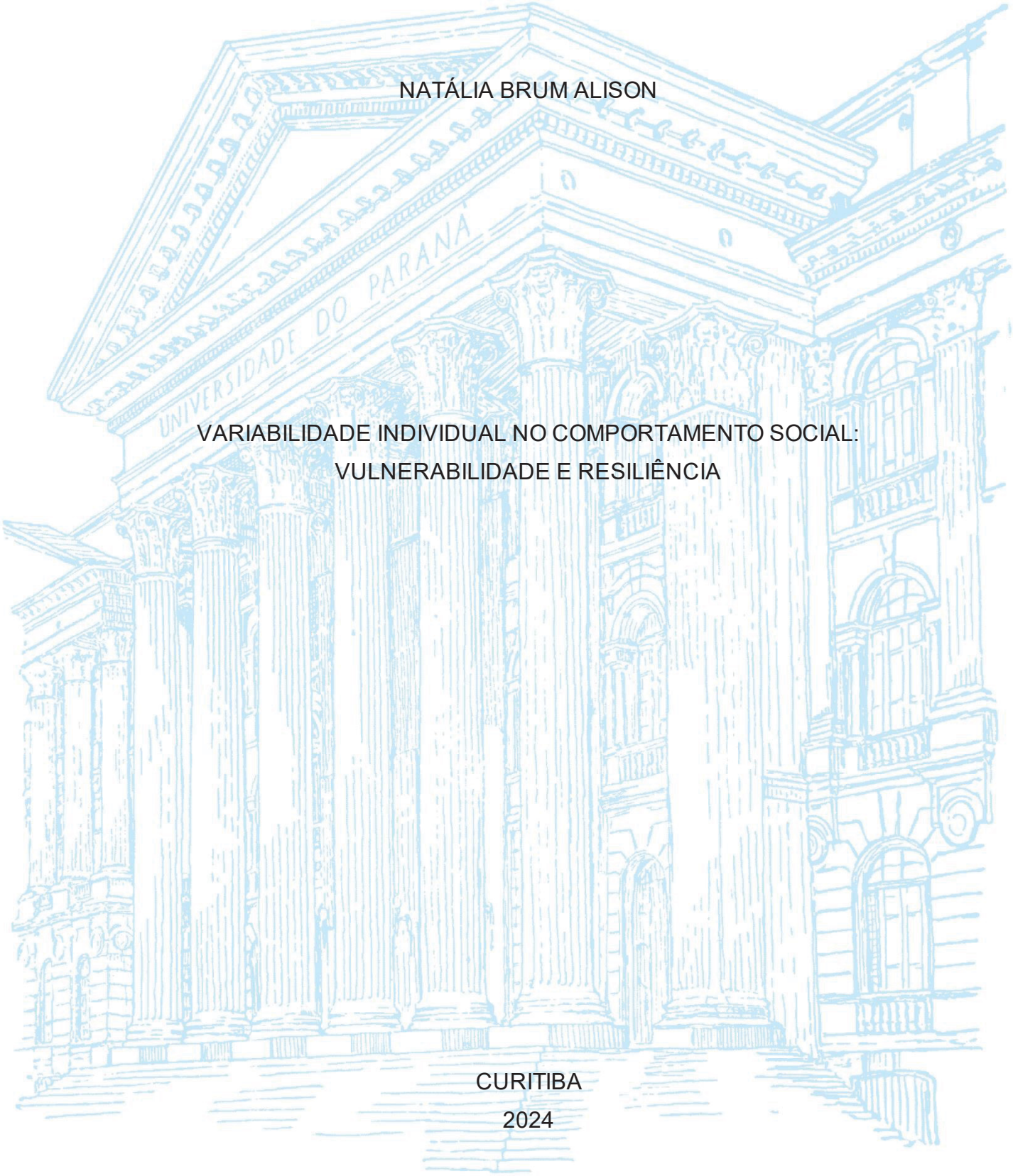
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NATÁLIA BRUM ALISON



VARIABILIDADE INDIVIDUAL NO COMPORTAMENTO SOCIAL: VULNERABILIDADE E RESILIÊNCIA

CURITIBA

2024

NATÁLIA BRUM ALISON

VARIABILIDADE INDIVIDUAL NO COMPORTAMENTO SOCIAL: VULNERABILIDADE E RESILIÊNCIA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Fisiologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fisiologia.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Jacson Martynhak

Coorientador: Prof. Dr. Roberto Andreatini

CURITIBA

2024

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Alison, Natália Brum
Variabilidade individual no comportamento social : vulnerabilidade e resiliência / Natália Brum Alison. – Curitiba, 2024.
1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Fisiologia.
Orientador: Prof. Dr. Bruno Jacson Martynhak.
Coorientador: Prof. Dr. Roberto Andreatini.

1. Sociabilidade. 2. Depressão. 3. Transtorno de estresse pós-traumático 4. Estresse (Fisiologia). 5. Medo. 6. Efeitos do contexto (Psicologia). I. Martynhak, Bruno Jacson, 1986-. II. Andreatini, Roberto, 1961-. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia. IV. Título.

Bibliotecária: Giana Mara Seniski Silva CRB-9/1406

ATA Nº80

ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE MESTRADO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRA EM FISIOLOGIA

No dia vinte e oito de fevereiro de dois mil e vinte e quatro às 13:30 horas, na sala 103, Auditório do Departamento de Fisiologia, foram instaladas as atividades pertinentes ao rito de defesa de dissertação da mestranda **NATÁLIA BRUM ALISON**, intitulada**:** **VARIABILIDADE INDIVIDUAL NO COMPORTAMENTO SOCIAL: VULNERABILIDADE E RESILIÊNCIA**, sob orientação do Prof. Dr. BRUNO JACSON MARTYNHAK. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação FISIOLOGIA da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: BRUNO JACSON MARTYNHAK (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), PAULA SANTANA LUNARDI (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), JANAÍNA MENEZES ZANOVELI (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ). A presidência iniciou os ritos definidos pelo Colegiado do Programa e, após exarados os pareceres dos membros do comitê examinador e da respectiva contra argumentação, ocorreu a leitura do parecer final da banca examinadora, que decidiu pela APROVAÇÃO. Este resultado deverá ser homologado pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais definidos pelo programa. A outorga de título de mestra está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, BRUNO JACSON MARTYNHAK, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

CURITIBA, 28 de Fevereiro de 2024.

Assinatura Eletrônica
28/02/2024 16:30:13.0
BRUNO JACSON MARTYNHAK
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
28/02/2024 16:33:39.0
PAULA SANTANA LUNARDI
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
29/02/2024 14:17:20.0
JANAÍNA MENEZES ZANOVELI
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.
Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 339931
Para autenticar este documento/assinatura, acesse https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp e insira o codigo 339931

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação FISIOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **NATÁLIA BRUM ALISON** intitulada: **VARIABILIDADE INDIVIDUAL NO COMPORTAMENTO SOCIAL: VULNERABILIDADE E RESILIÊNCIA**, sob orientação do Prof. Dr. BRUNO JACSON MARTYNHAK, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 28 de Fevereiro de 2024.

Assinatura Eletrônica
28/02/2024 16:30:13.0
BRUNO JACSON MARTYNHAK
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
28/02/2024 16:33:39.0
PAULA SANTANA LUNARDI
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
29/02/2024 14:17:20.0
JANAÍNA MENEZES ZANOVELI
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.
Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 339931
Para autenticar este documento/assinatura, acesse https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp e insira o codigo 339931

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Professor Doutor Bruno Martynhak, que me orientou desde a iniciação científica, pela compreensão, pelo apoio, pela inspiração e pela disponibilidade, que foram essenciais para eu chegar até aqui. Aos meus colegas de laboratório, Marcela, Maria e Franco, por todos os ensinamentos, ajudas e conversas. Também aos estagiários que me auxiliaram em diversos experimentos, principalmente Marla, João e Gabriela. À Camila por ter disponibilizado tempo para me ensinar a usar os programas e os equipamentos de vocalizações. À minha mãe, meu pai, meu irmão e meus amigos por todo o apoio emocional e incentivo que precisei durante esse processo. À Universidade Federal do Paraná por toda a estrutura fornecida que possibilitou a realização desse estudo. Aos funcionários e docentes dessa instituição, que contribuíram para minha formação acadêmica desde a graduação. Aos funcionários do biotério da UFPR por toda a ajuda com os camundongos utilizados. Agradeço à CAPES pela bolsa de estudo concedida e pelo apoio financeiro do convênio CAPES-COFECUB.

RESUMO

O estresse é a causa de diversos transtornos psicológicos como a depressão e o transtorno de estresse pós-traumático. Porém, nem todos os indivíduos que passam por situações estressantes desenvolvem um transtorno psiquiátrico. Isso ocorre porque alguns indivíduos são mais resilientes do que outros, ou seja, eles conseguem lidar melhor com situações de adversidade. Existem diversos fatores relacionados a resiliência, sendo um deles o comportamento social. Em um estudo da literatura, ratos de baixa sociabilidade foram mais resilientes ao estresse crônico do que ratos de alta sociabilidade. Além disso, o apoio social, mais conhecido como social buffering, pode amenizar a resposta de medo em um indivíduo condicionado. O objetivo deste estudo foi verificar se camundongos C57BL/6 de alta sociabilidade são mais susceptíveis que animais de baixa sociabilidade em um modelo animal de depressão e em um modelo animal de medo condicionado. Para isso, o primeiro experimento foi realizado para verificar a eficiência do estresse crônico brando e imprevisível em gerar comportamentos tipo-depressivo. Em seguida, foi realizado um experimento para entender se a sociabilidade era um comportamento-traço, e se estava intrinsicamente relacionada a alguma susceptibilidade. O terceiro experimento teve o objetivo de verificar se a sociabilidade estava relacionada à resiliência ao estresse crônico brando e imprevisível. O quarto e o quinto experimento foram realizados para observar se a sociabilidade estava relacionada à maior porcentagem de congelamento durante o protocolo de medo condicionado ao contexto. O estresse crônico brando e imprevisível promoveu comportamento tipo-depressivo como esperado no experimento inicial, sem a classificação em termos de comportamento social. Porém, este resultado não replicado no experimento posterior, com a classificação prévia. Foi possível concluir que a sociabilidade é um comportamento-traço, que se mantém ao longo de repetições da tarefa social. Também foi possível constatar que animais de baixa sociabilidade expressam maior tempo de congelamento durante a extinção e o teste de extinção do medo condicionado ao contexto, ou seja, são mais susceptíveis à expressão da memória de medo. Durante a extinção, foi observado que os animais que fizeram essa etapa em dupla tiveram menor tempo de congelamento do que os animais sozinhos, ou seja, houve efeito do social buffering. Além disso, foi visto que o efeito do social buffering não é visto durante o teste de extinção, realizado um dia após a extinção em duplas, com os animais sozinhos, o que indica que o apoio social não altera a memória de medo, mas apenas a sua expressão.

Palavras-chave: Sociabilidade; depressão; transtorno do estresse pós-traumático; estresse crônico brando e imprevisível; medo condicionado ao contexto; social buffering.

ABSTRACT

Stress is the cause of several psychological disorders such as depression and post-traumatic stress disorder. However, not all individuals who experience stressful situations develop a psychiatric disorder. This is because some individuals are more resilient than others, meaning they can better cope with adversity. There are several factors related to resilience, one of them being social behavior. In a literature study, low sociability rats were more resilient to chronic stress than high sociability rats. Additionally, social support, also known as social buffering, can mitigate the fear response in a conditioned individual. The aim of this study was to verify if highly sociable C57BL/6 mice are more susceptible than low sociability animals in an animal model of depression and in an animal model of conditioned fear. For this, the first experiment was conducted to verify the effectiveness of chronic unpredictable mild stress in generating depressive-like behaviors. Then, an experiment was carried out to understand if sociability was a trait behavior, and if it was inherently related to any susceptibility. The third experiment aimed to verify if sociability was related to resilience to chronic unpredictable mild stress. The fourth and fifth experiments were conducted to observe if sociability was related to a greater percentage of freezing during contextual fear conditioning paradigm. Chronic unpredictable mild stress promoted depressive-like behavior as expected in the initial experiment, without classification in terms of social behavior. However, this result was not replicated in the subsequent experiment, with prior classification. It was possible to conclude that sociability is a trait behavior, which persists throughout repetitions of the social task. It was also possible to observe that low sociability animals express longer freezing times during extinction and the extinction test of contextual fear conditioning, meaning they are more susceptible to fear memory expression. During extinction, it was observed that animals that underwent this stage in pairs had less freezing time than animals alone, indicating the presence of social buffering effect. Furthermore, it was observed that the social buffering effect is not seen during the extinction test, conducted one day after extinction in pairs, with the animals alone, indicating that social support does not alter fear memory, but only its expression.

Keywords: Sociability, depression, post-traumatic stress disorder, mild and unpredictable chronic stress, contextual fear conditioning, social buffering.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cronograma de uma semana de ECBI 17

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Protocolo Medo Condicionado ao Contexto 20
Figura 2 – Resultados do Experimento 1 24
Figura 3 – Resultados do Experimento 2 26
Figura 4 – Resultados do Experimento 3 29
Figura 5 – Resultados do Experimento 4 31
Figura 6 – Resultados do Experimento 5 33

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ASN	- Alimentação suprimida por novidade
CA	- Campo aberto
ECBI	- Estresse crônico brando e imprevisível
LCE	- Labirinto em cruz elevado
NF	- Natação forçada
PPS	- Preferência por sacarose
R	- Camundongo residente isolado
TEPT	- Transtorno de estresse pós-traumático
TS	- Tarefa Social
V	- Camundongo visitante

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 16
1.1 OBJETIVOS 19
1.1.1 Objetivo geral 19
1.1.2 Objetivos específicos 19
2 MATERIAL E MÉTODOS 16
2.1 ANIMAIS 16
2.2 PROTOCOLO DE ESTRESSE CRÔNICO BRANDO E IMPREVISÍVEL (ECBI) 16
2.3 TESTES COMPORTAMENTAIS 17
2.3.1 Campo aberto (CA) 17
2.3.2 Labirinto em cruz elevado (LCE) 17
2.3.3 Natação forçada (NF) 17
2.3.4 Preferência por sacarose (PPS) 18
2.3.5 Alimentação suprimida por novidade (ASN) 18
Tarefa social (TS) 19
2.3.6 Protocolo de medo condicionado ao contexto 19
2.4 DESENHO EXPERIMENTAL 20
2.4.1 Experimento 1: Padronização do estresse crônico brando e imprevisível 20
2.4.2 Experimento 2: Padronização da tarefa social 21
2.4.3 Experimento 3: Efeito da sociabilidade em um protocolo de ECBI 21
2.4.4 Experimento 4: Efeito da sociabilidade em um protocolo de medo condicionado ao contexto com choques de 0.7 mA e duração de 2 segundos 21
2.4.5 Experimento 5: Efeito da sociabilidade em um protocolo de medo condicionado ao contexto com choques de 0.8 mA e duração de 3 segundos 22
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA 22
3 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS 23
3.1 EXPERIMENTO 1: PADRONIZAÇÃO DO ESTRESSE CRÔNICO BRANDO E IMPREVISÍVEL 23
3.2 EXPERIMENTO 2: PADRONIZAÇÃO DA TAREFA SOCIAL 25
3.3 EXPERIMENTO 3: EFEITO DA SOCIABILIDADE EM UM PROTOCOLO DE ECBI 28

3.4 EXPERIMENTO 4: EFEITO DA SOCIABILIDADE EM UM PROTOCOLO DE MEDO CONDICIONADO AO CONTEXTO COM CHOQUES DE 0.7 MA E DURAÇÃO DE 2 SEGUNDOS..... 30
3.5 EXPERIMENTO 5: EFEITO DA SOCIABILIDADE EM UM PROTOCOLO DE MEDO CONDICIONADO AO CONTEXTO COM CHOQUES DE 0.8 MA E DURAÇÃO DE 3 SEGUNDOS..... 31
4 DISCUSSÃO 34
REFERÊNCIAS 38

1 INTRODUÇÃO

O estresse é uma resposta adaptativa e aguda a um estímulo ambiental, que quando ocorre de forma crônica e incontrolável pode ser danoso para a saúde psicológica (MCEWEN & AKIL, 2020). Dessa forma, a exposição a eventos estressantes é um dos maiores causadores de transtornos psiquiátricos, como a depressão, a ansiedade e o transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) (DE KLOET, 2008; MCEWEN & AKIL, 2020).

A depressão é um transtorno mental que afeta o humor, os pensamentos e a saúde física (CUI, 2015). É caracterizada por sentimento de tristeza e de culpa, perda de interesse e de prazer, baixa autoestima, distúrbio no sono e no apetite, cansaço e falta de concentração. Essa psicopatologia atinge 322 milhões de pessoas no mundo, sendo mais comum entre mulheres do que em homens. O transtorno depressivo é o maior contribuinte para a perda de saúde não-fatal, sendo responsável por 7,5% dos anos vividos com incapacidade no mundo. Além disso, é o maior contribuinte para as mortes por suicídio, o qual é a segunda maior causa de morte entre pessoas com 15 a 29 anos (WHO, 2017).

Muitos modelos animais de depressão são baseados no estresse. Existem paradigmas de estresse crônico, como o estresse crônico por choques nas patas (POLLAK et al., 2010), o estresse crônico brando e imprevisível, a derrota social, o estresse crônico por restrição de movimento (POLLAK et al., 2010; MÉNARD et al., 2016) e o isolamento social (MÉNARD et al., 2016). Também existem modelos baseados em situações de estresse no início da vida, como a separação maternal e o estresse pré-natal. Além desses paradigmas, existe o modelo de desamparo aprendido, em que o animal não aprende a escapar de situações aversivas após ser exposto a diversos eventos incontroláveis e imprevisíveis de estresse (POLLAK et al., 2010; MÉNARD et al., 2016).

O transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) é uma doença psiquiátrica desenvolvida após a vivência de um evento extremamente traumático. Os sintomas mais comuns são: pensamentos intrusivos, evitação de lembranças do trauma, alteração de reatividade, dificuldades sociais e alterações negativas no sono, no humor e na cognição (CSAT, 2014). O TEPT é mais frequente em mulheres do que em homens, e muitas vezes é associado a outros transtornos psiquiátricos como depressão, ansiedade e abuso de drogas (CSAT, 2014; SCHÖNER et al, 2017).

Um dos sintomas do TEPT é a presença da memória de medo (KIDA, 2019). Uma das formas de se estudar esse componente da memória aversiva presente no TEPT é através do condicionamento pavloviano (SCHÖNER et al, 2017). Neste modelo um estímulo neutro é condicionado a um estímulo aversivo. Assim, o estímulo condicionado passa a gerar no animal respostas comportamentais e fisiológicas relacionadas ao medo, como o congelamento, aumento de frequência cardíaca e respiratória e liberação de hormônios (LEDOUX, 2013).

Apesar do estresse ser capaz de gerar transtornos psiquiátricos como a depressão maior e o TEPT, nem todas as pessoas desenvolvem um transtorno após um evento estressante ou traumático. Isso também é visto em modelos animais, em que roedores submetidos ao estresse não desenvolvem um comportamento tipo-depressivo ou tipo-ansioso (OSÓRIO et al, 2017). Esse fenômeno é chamado de resiliência e pode ser definido como uma melhor capacidade de se adaptar a situações aversivas (OSÓRIO et al, 2017; HORNOR, 2017; RUTTER, 2012).

A presença ou não de resiliência está associada à variabilidade individual. As diferenças nas interações genéticas e ambientais, leva a alterações na estrutura e função do sistema nervoso. Assim, essas diferenças podem ser expressas em diferentes traços estáveis de comportamento. Estes traços podem estar associados à resiliência ou vulnerabilidade de um indivíduo em desenvolver um transtorno psiquiátrico (HARRO, 2010).

Por exemplo, ratos considerados “pessimistas” em uma tarefa ambígua se mostraram mais susceptíveis à anedonia induzida por estresse crônico de imobilização em comparação com os ratos considerados “otimistas” (RYGULA et al, 2013). Camundongos C57BL/6 com maior expressão de comportamento tipo-ansioso apresentam maior propensão a desenvolver comportamentos tipo-depressivos, como aumento da imobilidade no teste da natação forçada e redução da preferência por sacarose, além de prejuízo na qualidade da pelagem (MCEWEN et al, 2015). Estudo do laboratório demonstrou que camundongos Swiss classificados como de alta ansiedade traço apresentaram maior expressão de resposta de medo em protocolo de medo condicionado, incluindo prejuízo da extinção da memória aversiva (GODOY et al., 2022). Estudos que avaliam diferenças individuais a priori como os dois estudos mencionados anteriormente são raros na literatura, sendo mais comum estudos a posteriori, em que algum fator é estudado após a separação entre animais resistentes e resilientes em um modelo (WEGER & SANDI, 2018). Por exemplo, após exposição ao modelo de derrota social, camundongos C57BL/6 susceptíveis apresentaram

menor expressão do microRNA miR-218 no sangue em comparação com os animais resilientes (TORRES-BERRÍO et al, 2020).

Existem linhagens de animais que possuem mais susceptibilidade ao estresse do que outras, como os ratos Roman de baixa ou alta esquiva (MORELLO et al, 2017). A resiliência também pode estar associada à expressão gênica e mudanças na cromatina de regiões específicas do cérebro (RUSSO et al., 2012). Dentre os possíveis fatores associados com resiliência e vulnerabilidade, encontra-se o comportamento social.

O comportamento social está presente em diversos mamíferos, como os roedores e os seres humanos. Ratos e camundongos geralmente formam grupos e têm atitudes amigáveis com seus companheiros de gaiola (KONDRAKIEWIC et al., 2018), além de vocalizarem para se comunicar uns com os outros (FAURE et al., 2017; HEINLA et al., 2021). Ratos possuem comportamento pró-social espontâneo com a finalidade de acabar com o sofrimento de outro indivíduo (BARTAL et al., 2011). Além disso, distúrbios no comportamento social são sintomas de diversos transtornos psiquiátricos (TÕNISSAAR et al., 2004).

O comportamento social pode ajudar a prever a resiliência e a vulnerabilidade de um indivíduo. Camundongos C57BL/6 socialmente exploradores são menos sensíveis ao calor e menos ansiosos do que indivíduos socialmente fugitivos. Além disso, os níveis de sociabilidade podem alterar as respostas a opioides (MADISON et al., 2020). O nível de dominância também pode prever a resiliência, mas os resultados existentes são conflituosos. Um estudo mostrou que camundongos C57BL/6 dominantes são mais suscetíveis à derrota social do que animais submissos (LARRIEU et al., 2017). Porém, em outro estudo, foi visto que animais de alta hierarquia são mais resistentes a derrota social do que animais de baixa hierarquia, além de que a posição na hierarquia não prevê a susceptibilidade a estressores não sociais (LECLAIR et al., 2021).

Em uma pesquisa com ratos machos Sprague–Dawley, animais com baixa sociabilidade submetidos ao estresse crônico variável apresentaram um aumento na interação social, o que não aconteceu com ratos de alta sociabilidade. Além disso, o grupo de alto comportamento social submetido ao modelo de depressão apresentou redução no consumo de sacarose, enquanto o grupo de baixo comportamento social manteve o consumo inalterado. Ainda, os ratos de baixa interação social submetidos ao protocolo de estresse apresentaram aumento do comportamento de natação no teste de natação forçada em comparação aos controles (TÕNISSAAR et al., 2008).

Já em estudos clínicos, o que se observa é que a extroversão é um traço de personalidade que se correlaciona positivamente com a resiliência, e que torna o indivíduo menos propenso a desenvolver transtornos como a depressão (NIETO et al., 2023; CHOI et al., 2019; SHEN et al., 2021).

As interações sociais também podem ajudar a prevenir os efeitos adversos do estresse. Esse fenômeno é chamado de social buffering e ocorre quando um parceiro oferece apoio social a um indivíduo estressado, diminuindo o efeito do estresse (PEEN, et al. 2021). O social buffering é capaz de diminuir o congelamento durante a extinção do protocolo de medo condicionado ao contexto (GORKIEWICZ et al., 2023; LAZZARIM et al., 2023; MIKAMI et al., 2020). Além disso, essa redução depende de características do parceiro, como o status emocional, a familiaridade e a linhagem (GORKIEWICZ et al.,2023). Porém, o apoio social não melhora a memória de medo, ou seja, quando os animais são testados novamente sem um parceiro, eles respondem da mesma forma que um indivíduo que fez a extinção sem a presença de outro animal (GORKIEWICZ et al.,2023; LAZZARIM et al., 2023). Além disso, a magnitude de transmissão do social buffering depende da posição hierárquica do indivíduo. Animais de alta hierarquia desenvolvem comportamento tipo-depressivo em menor proporção do que animais de baixa hierarquia, quando há apoio social (LEE et al., 2021).

O objetivo desse estudo foi verificar pela primeira vez se a sociabilidade de camundongos C57BL/6 é um traço estável, além de verificar se a alta sociabilidade está relacionada com a resiliência, como é visto em estudos clínicos, ou com a vulnerabilidade, como foi visto em ratos Sprague–Dawley.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Verificar se o traço de sociabilidade prediz vulnerabilidade ou resiliência em um modelo de estresse crônico brando e imprevisível e em um modelo de medo condicionado ao contexto.

1.1.2 Objetivos específicos

- Verificar se existe um traço de sociabilidade estável em camundongos;

- Verificar se o modelo de estresse crônico brando e imprevisível é capaz de gerar comportamentos tipo-depressivos;
- Observar se o traço de sociabilidade prediz vulnerabilidade ou resiliência ao estresse crônico brando e imprevisível;
- Observar se o traço de sociabilidade prediz vulnerabilidade ou resiliência ao medo condicionado ao contexto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ANIMAIS

Os animais utilizados nos experimentos foram camundongos C57BL/6 machos e fêmeas com 60 dias de idade, fornecidos pelo Biotério da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Os machos e as fêmeas permaneciam nas mesmas salas com temperatura controlada (22 ºC ± 2 ºC) em ciclo claro/escuro de 12h (luzes acesas às 7h00) e comida e água ad libitum, sem enriquecimento ambiental. Todos os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA nº 1478). Os camundongos eram colocados na sala de experimento com pelo menos uma hora de antecedência aos testes comportamentais para aclimatação. Todos os grupos experimentais eram formados por machos e fêmeas na mesma proporção.

2.2 PROTOCOLO DE ESTRESSE CRÔNICO BRANDO E IMPREVISÍVEL (ECBI)

O protocolo de estresse crônico brando e imprevisível utilizado foi baseado nos protocolos de Culig et al. (2017) e Nollet et al. (2013). Os animais que passaram pelo protocolo foram submetidos diariamente a dois estressores ambientais ou sociais de intensidade branda ou a um estressor de alteração no ciclo claro/escuro em um cronograma imprevisível. Os estressores utilizados foram: remoção da serragem por até 6 horas, umidificação da serragem por até 18 horas, substituição da serragem por 100 ml de água por 30 minutos (banho), inclinação da gaiola em 45º por até 18 horas, colocar o camundongo em uma gaiola que foi ocupada por outro animal estressado sem voltar novamente para sua gaiola (troca), restrição de movimento em tubo Falcon de 50 ml durante 1 hora, exposição a claro constante (24 horas com luzes acesas), exposição a escuro constante (24 horas com luzes apagadas) e ciclo claro/escuro de 6 horas. Os animais estressados permaneceram isolados durante todo o protocolo.

Tabela 1 - Cronograma de uma semana de ECBI

Dia	**Estressor**
Segunda-feira	Ciclo de 6 horas
Terça-feira	Banho (11:00-11:30) + Troca (11:50)
Quarta-feira	Imobilização (10:00-11:00) + Banho (11:10-11:40) *Troca por gaiola limpa antes da aplicação dos estressores
Quinta-feira	Remoção de cepilho (13:00-15:00) + Caixa inclinada (15:00-9:00)
Sexta-feira	Sem aplicação de estressores devido ao Teste de Preferência por Sacarose
Sábado	Remoção de cepilho (11:52-17:20) + Privação de comida (17:25-11:25)
Domingo	Claro constante

FONTE: A autora (2024).

2.3 TESTES COMPORTAMENTAIS

2.3.1 Campo aberto (CA)

O aparato utilizado foi uma arena circular com 45 cm de diâmetro feita com material plástico branco. Os animais eram colocados no centro da arena, permanecendo nela durante 5 minutos. Os parâmetros avaliados foram a distância total percorrida e o tempo permanecido no centro da arena. O teste era realizado no período da manhã.

2.3.2 Labirinto em cruz elevado (LCE)

O labirinto em cruz elevado é formado por quatro braços, sendo dois abertos e dois fechados. Cada braço possui tamanho de 15x5 cm e estão a 50 cm do chão. O braço aberto possui uma pequena borda de 0,3 cm e o braço fechado possui uma parede de 15 cm. Os animais eram colocados no centro do labirinto, com a cabeça virada para o braço fechado, e permaneciam no aparato durante 5 minutos. Neste teste foram medidas a porcentagem de tempo no braço aberto e a porcentagem de entradas no braço aberto com a finalidade de detectar comportamento do tipo-ansioso. O teste era realizado no período da manhã.

2.3.3 Natação forçada (NF)

Os camundongos eram colocados em um cilindro com água a uma altura de 20 cm durante 6 minutos. Nele foram contabilizadas a imobilidade nos últimos 4 minutos e a latência para imobilidade com o objetivo de verificar o comportamento tipo-depressivo. O teste era realizado no período da manhã.

2.3.4 Preferência por sacarose (PPS)

O protocolo utilizado foi adaptado Monleon e colaboradores (1995) com o intuito de avaliar o comportamento tipo-depressivo dos animais. O teste de preferência por sacarose foi realizado semanalmente, durante o protocolo de estresse crônico brando e imprevisível. Antes do teste, os animais passaram por uma habituação com sacarose durante três dias consecutivos. No primeiro foram disponibilizadas duas garrafas com sacarose. No segundo e terceiro dias, uma garrafa ficou com sacarose e a outra com água. Os camundongos foram expostos à solução de sacarose durante 24 horas, sem a privação de água e comida para a realização do teste (MARTYNHAK et al., 2011). Os bebedouros contendo água ou sacarose foram pesados antes e após as 24 horas de teste, e a porcentagem de consumo de sacarose foi calculada pela seguinte equação: (% preferência de sacarose) = (consumo de sacarose/ consumo total (H2O + sacarose)) x 100.

2.3.5 Alimentação suprimida por novidade (ASN)

O protocolo utilizado foi adaptado de Samuels e Hens (2011) com o objetivo de avaliar comportamento tipo-ansioso. Antes de iniciar o teste, os animais passaram por uma restrição alimentar de 24 horas. Na primeira etapa do teste, os animais foram colocados no canto de uma caixa grande forrada por serragem, com iluminação de 1500 lux. No centro desta caixa, era colocado um pallet de ração em cima de um suporte para comida. Essa etapa teve a duração de 5 minutos, e o objetivo era verificar a latência para o animal comer em um ambiente novo e ansiogênico. A segunda etapa do teste, que foi realizada em seguida à primeira, foi realizada na gaiola do animal, com água e comida à vontade, e durava 5 minutos. Nesta etapa, foi medida a latência para o animal comer e a quantidade que ele comeu como uma forma de controle. Nesse teste também foi medida a diferença de peso do animal antes da restrição alimentar e depois de acabado o teste. O teste era realizado no período da manhã.

Tarefa social (TS)

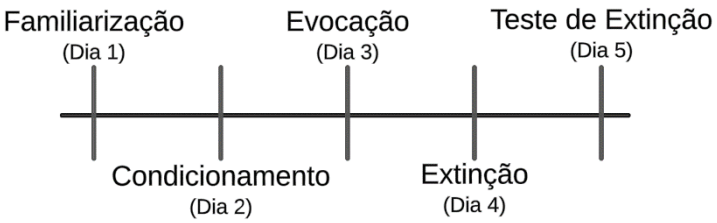
A avaliação do comportamento social foi realizada através da tarefa social projetada por Granon et al. (2003), em que um par de camundongos composto por um camundongo residente isolado (R) e um camundongo visitante (V) são reunidos pela primeira vez em um ambiente novo para promover tanto a exploração de novidade quanto a interação social (AVALE et al., 2011). O animal R foi alojado individualmente 4 semanas antes da tarefa, enquanto o camundongo V permaneceu alojado em grupo.

A tarefa de interação social foi realizada em uma caixa de acrílico transparente (L: 50 cm × l: 25 cm × A: 31 cm) localizada em uma sala experimental iluminada com 300 lux. O camundongo R foi colocado na caixa experimental por 30 min para exploração. Então, o camundongo V (da mesma idade que o R) foi gentilmente introduzido na caixa, no canto oposto ao R. Para cada experimento, o chão da gaiola foi coberto com serragem limpa. O teste teve duração de 8 minutos e nele foi analisado o tempo de contato entre os dois camundongos. Os camundongos V eram apenas utilizados para fazer a interação, sendo que apenas os animais R eram classificados pelo tempo de contato e testados em outros protocolos. A tarefa era realizada no período da tarde.

2.3.6 Protocolo de medo condicionado ao contexto

Este protocolo consiste em cinco etapas (FIGURA 1), cada uma realizada em dias seguidos, sendo todas realizadas em uma caixa de esquiva passiva retangular (27 × 24 × 31 cm), com um piso formado por barras de aço que conduziam o choque gerado. No primeiro dia, o animal é colocado na caixa de esquiva por cinco minutos para familiarização ao contexto. No dia seguinte, é feito o condicionamento, o qual consiste em 3 minutos de habituação, seguidos por 5 choques com 60 segundos de intervalo entre eles. Após os choques, os animais ficavam mais 1 minuto dentro do aparato. No terceiro dia é feita a evocação, em que os camundongos condicionados são colocados novamente na caixa de esquiva por 3 minutos, sem receber choques. No quarto dia é realizada a extinção, a qual consiste em 30 minutos no contexto sem o recebimento de choques. Nesta etapa, o animal pode estar acompanhado ou não de uma dupla controle, para observação do efeito de social buffering. No último dia do protocolo, é realizado o teste de extinção, em que todos os animais são colocados durante 3 minutos na caixa de esquiva.

Figura 1 – Protocolo Medo Condicionado ao Contexto



FONTE: A autora (2023).

Neste protocolo foi avaliada a porcentagem de congelamento e de grooming nas etapas de evocação, extinção e teste de extinção. Foi considerado congelamento quando o animal tinha apenas o movimento da respiração. A porcentagem de congelamento foi obtida pela fórmula: (tempo de freezing X 100 / tempo total). Na etapa de extinção, também foi avaliado o tempo de contato entre os animais em duplas. Todas as etapas foram realizadas no período da tarde, exceto a extinção que ocorria durante o dia inteiro.

2.4 DESENHO EXPERIMENTAL

2.4.1 Experimento 1: Padronização do estresse crônico brando e imprevisível

O primeiro experimento teve o objetivo de testar se o protocolo de estresse crônico brando e imprevisível geraria um efeito tipo-depressivo nos camundongos e se o isolamento causaria o mesmo efeito. Para isso, os animais foram divididos em três grupos: controle agrupado (n=8), controle isolado (n=8) e estresse (n=8). Os camundongos do grupo controle agrupado permaneceram alojados em grupo durante todo o protocolo do experimento. Os do grupo controle isolado permaneceram alojados individualmente. Os animais do grupo estresse passaram pelo protocolo de estresse crônico brando e imprevisível durante cinco semanas. Durante o protocolo, todos os animais foram submetidos ao teste de preferência por sacarose, uma vez por semana. Após o protocolo, todos os grupos foram submetidos aos testes de campo aberto, de labirinto em cruz elevado e de nado forçado (FIGURA 2A).

2.4.2 Experimento 2: Padronização da tarefa social

Esse experimento teve o objetivo de verificar se os animais tinham um traço de sociabilidade e se a sociabilidade estava associada a outro comportamento. Para isso, os animais foram submetidos três vezes a tarefa social, e passaram pelos testes de campo aberto, de labirinto em cruz elevado, de NSF e de natação forçada (FIGURA 3A). Neste experimento os animais foram divididos nos grupos baixa sociabilidade (n=11) e alta sociabilidade (n=11), através do tempo de contato entre R e V na primeira tarefa social.

2.4.3 Experimento 3: Efeito da sociabilidade em um protocolo de ECBI

O terceiro experimento teve o objetivo de verificar se o traço de sociabilidade estava relacionado à resiliência ou à vulnerabilidade ao estresse crônico brando e imprevisível. Para isso, os animais passaram pela tarefa social e, baseado no tempo de contato, foram divididos em dois grupos: baixa sociabilidade e alta sociabilidade. Esses dois grupos foram subdivididos em quatro grupos: controle alta sociabilidade (n=4), controle baixa sociabilidade (n=5), estresse alta sociabilidade (n=5) e estresse baixa sociabilidade (n=6). Os animais dos grupos estresse foram submetidos a sete semanas do de estresse crônico brando e imprevisível. Após o protocolo de estresse, todos os camundongos foram submetidos aos testes de campo aberto, de labirinto em cruz elevado e de nado forçado (FIGURA 4A).

2.4.4 Experimento 4: Efeito da sociabilidade em um protocolo de medo condicionado ao contexto com choques de 0.7 mA e duração de 2 segundos

O objetivo desse experimento foi verificar se a sociabilidade era capaz de predizer a resposta ao medo. Inicialmente, os animais foram divididos em dois grupos através da tarefa social: baixa sociabilidade e alta sociabilidade. Uma semana depois, uma parte dos camundongos passou pelo protocolo de medo condicionado ao contexto, com choques de intensidade de 0.7 mA com duração de 2 segundos (FIGURA 5A). A outra parte não passou pelas etapas de familiarização, condicionamento e evocação, e foi utilizada para fazer dupla dos animais condicionados na extinção. A dupla não-condicionada tinha sempre sociabilidade oposta ao animal condicionado, ou seja, os animais de alta sociabilidade foram

colocados com camundongos de baixa sociabilidade e vice-versa. Todos os animais passaram pela etapa do teste de extinção.

2.4.5 Experimento 5: Efeito da sociabilidade em um protocolo de medo condicionado ao contexto com choques de 0.8 mA e duração de 3 segundos

O objetivo desse experimento foi verificar se a sociabilidade era capaz de predizer a resposta ao medo. Para isso, foi utilizada a mesma metodologia feita no Experimento 4 (FIGURA 5A), porém, a intensidade dos choques foi alterada para 0.8 mA com duração de 3 segundos.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística, foi utilizado o software STATISTICA 12.

No Experimento 1, foi utilizada uma ANOVA de medida repetidas (Fatores: grupo e semana) para analisar os dados da preferência por sacarose. Para os dados de campo aberto, labirinto em cruz elevado e natação forçada, foi utilizada uma ANOVA de uma via.

Os dados obtidos nas tarefas sociais realizadas no Experimento 2 foram analisados com um coeficiente de correlação intraclasse (ICC) e uma ANOVA de medidas repetidas. Já os dados obtidos no campo aberto, no labirinto em cruz elevado, na alimentação suprimida por novidade e na natação forçada foram analisados por teste t.

No Experimento 3, a porcentagem de preferência por sacarose foi analisada por uma ANOVA fatorial de medidas repetidas (Fatores: grupo, sociabilidade e semana). Os dados obtidos no campo aberto, no labirinto em cruz elevado e na natação forçada foram analisados através de uma ANOVA de duas vias (Fatores: grupo e sociabilidade).

Nos Experimentos 4 e 5, os dados da evocação foram analisados por teste t. A sessão de extinção foi analisada por ANOVA de medidas repetidas (Fatores: tempo, sociabilidade, dupla). Os dados do teste de extinção foram analisados por uma ANOVA de duas vias (Fatores: sociabilidade e dupla).

Quando necessário, o teste de post hoc utilizado foi o de Newman-Keuls.

3 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

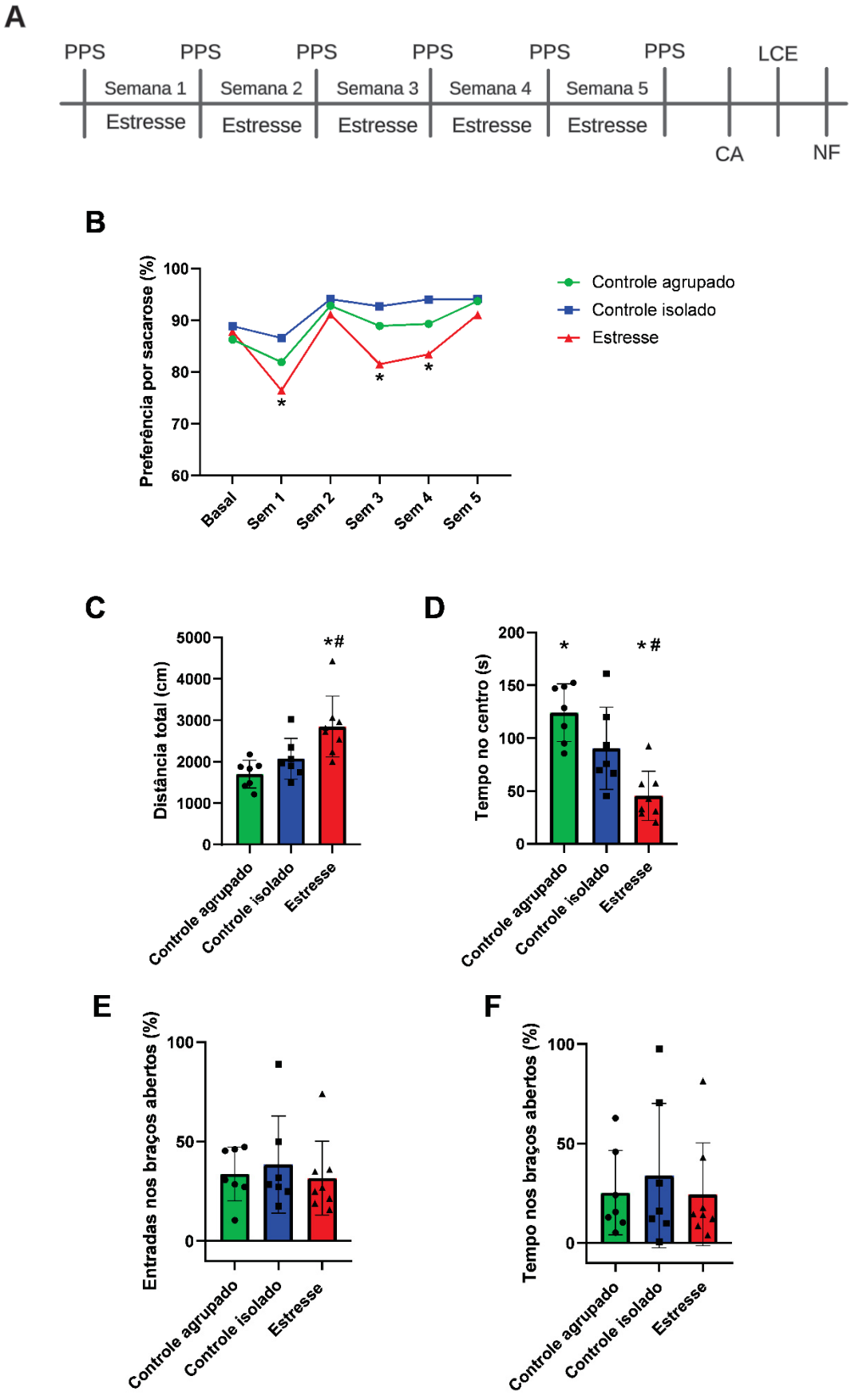
3.1 EXPERIMENTO 1: PADRONIZAÇÃO DO ESTRESSE CRÔNICO BRANDO E IMPREVISÍVEL

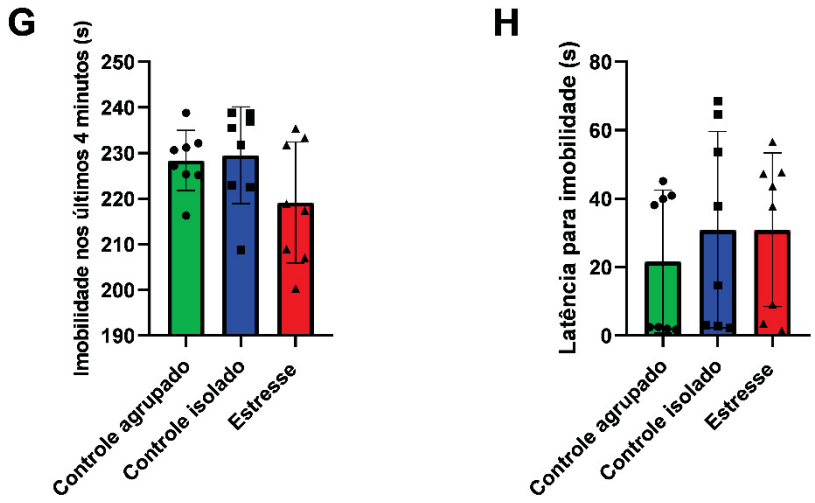
Neste experimento foi possível observar que houve uma diferença significativa de grupo no teste de preferência por sacarose ($F_{Grupo \times Semana}$ (2, 18)=9,4846, p=0,00154). O grupo estresse teve uma preferência menor do que o grupo controle isolado após uma semana (p=0,0098), após três semanas (p=0,011) e após quatro semanas (p=0,023) do protocolo de estresse (FIGURA 2B). Porém, após cinco semanas, não houve diferença entre os grupos (p>0,05). Assim, é possível concluir que o estresse foi capaz de gerar anedonia nos animais, de acordo com o esperado do modelo (WILLNER et al., 1987), apesar de ter ocorrido uma recuperação na quinta semana de estresse. Ou seja, o estresse levou os camundongos a terem um comportamento tipo-depressivo, já que a anedonia é um dos sintomas da depressão (LAMBERT et al., 2018).

No teste de campo aberto, houve uma diferença significativa entre grupos na distância total percorrida (F_{Grupo} (2, 19)=8,3112, p=0,00255) e no tempo permanecido no centro (F_{Grupo} (2, 19)=12,892, p=0,00029). Os animais estressados tiveram uma locomoção maior em relação aos animais controle agrupado (p=0,0026) e controle isolado (p=0,016) (FIGURA 2C). Além disso, o grupo estresse permaneceu menos tempo no centro que o controle agrupado (p=0,00035) e o controle isolado (p=0,0105), e os animais controle isolados permaneceram menos tempo no centro que os agrupados (p=0,0456) (FIGURA 2D).

No teste de labirinto em cruz elevado não houve efeito de grupo na porcentagem de entradas nos braços abertos (F_{Grupo} (2, 20)=0,93517, p=0,40902) (FIGURA 2E) e na porcentagem de tempo nos braços aberto (F_{Grupo} (2, 20)=0,81553, p=0,45659) (FIGURA 2F). No teste de natação forçada, não houve diferença entre os grupos no tempo de imobilidade nos últimos 4 minutos (F_{Grupo} (2, 21)=2,3278, p=0,12215) (FIGURA 2G) e no tempo de latência para imobilidade (F_{Grupo} (2, 21)=0,39261, p=0,68014) (FIGURA 2H).

Figura 2 – Resultados do Experimento 1





FONTE: A autora (2023)

LEGENDA: A) Cronograma do experimento 1. B) Porcentagem de preferência por sacarose. C) Distância total percorrida no campo aberto. D) Tempo no centro do campo aberto. E) Porcentagem de entradas nos braços abertos do LCE. F) Porcentagem de tempo nos braços abertos do LCE. G) Tempo de imobilidade nos últimos 4 minutos da natação forçada. H) Tempo de latência para imobilidade na natação forçada. PPS: preferência por sacarose. CA: campo aberto. LCE: labirinto em cruz elevado. NF: natação forçada. * p<0,05 em comparação ao controle isolado; # p<0,05 em ralação ao controle agrupado.

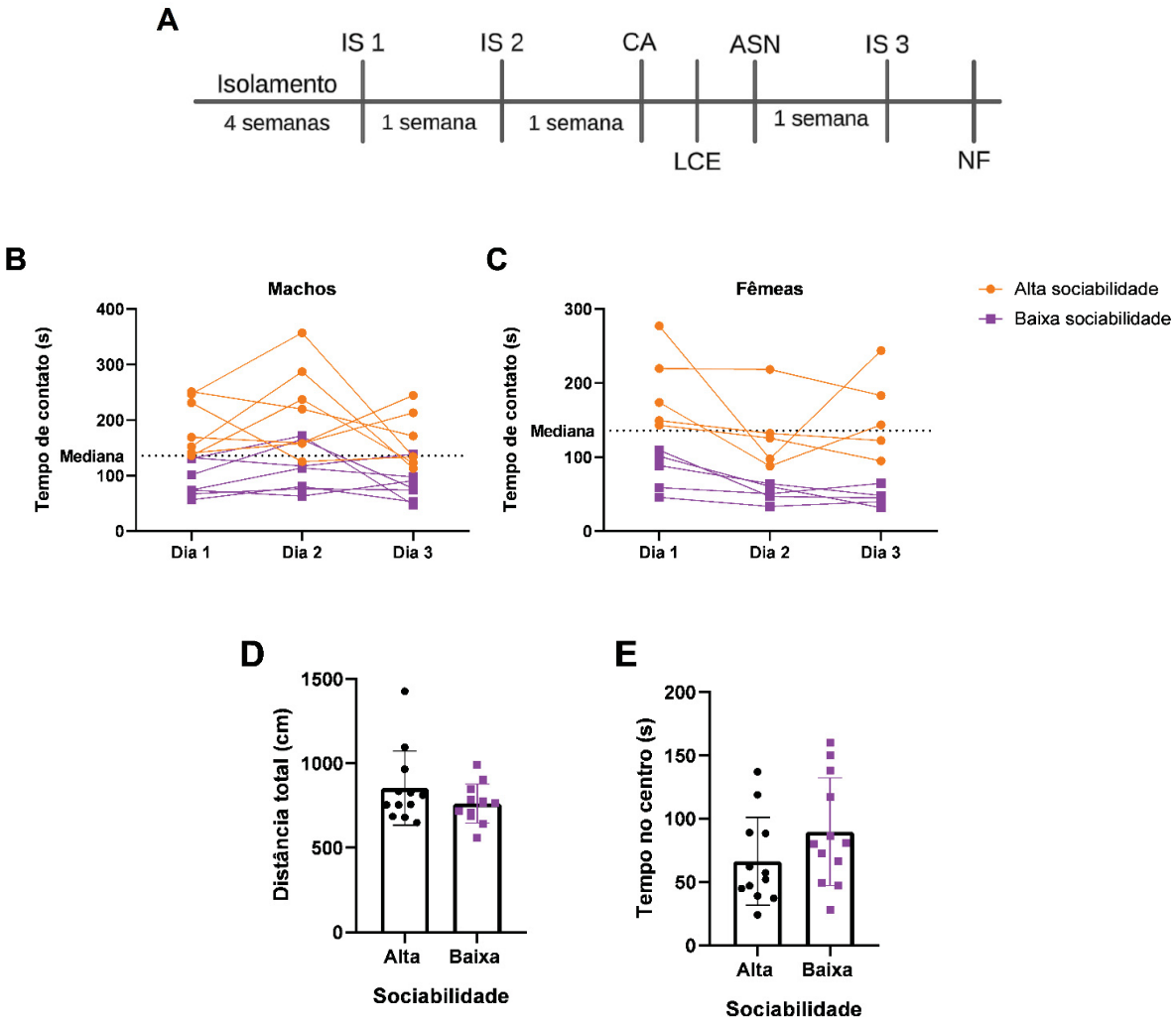
3.2 EXPERIMENTO 2: PADRONIZAÇÃO DA TAREFA SOCIAL

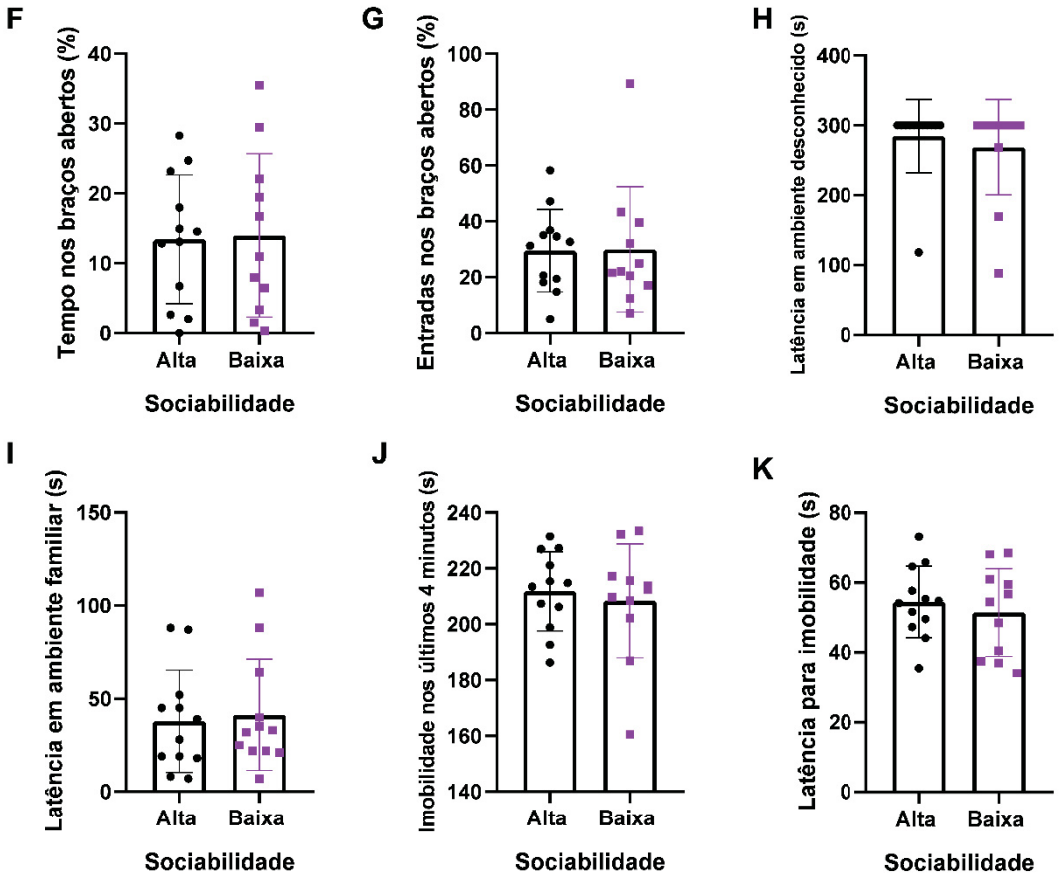
Através de uma correlação intraclasse de concordância absoluta feita entre o tempo de contato das três tarefas sociais, foi possível observar que os camundongos possuem um traço de sociabilidade estável (ICC=0,782, p<0,01). Assim, os animais foram divididos em dois grupos: baixa sociabilidade e alta sociabilidade, com a linha de corte sendo a mediana do tempo de contato na primeira tarefa social, e sendo diferente para machos e fêmeas (FIGURA 3B E 3C). Com os dados das três tarefas sociais, foi possível observar que não houve diferença no tempo de contato ao longo das repetições ($F_{\text{Sociabilidade x Repetição}}(2, 44)=0,08769$, p=0,91620).

No teste de campo aberto, não houve efeito da sociabilidade na distância total ($t_{\text{Sociabilidade}}(24)= -1,26821$, p=0,217981) (FIGURA 3D) e no tempo no centro ($t_{\text{Sociabilidade}}(24)=1,47020$, p=0,155665) (FIGURA 3E).

Também não houve efeito da sociabilidade na porcentagem de tempo nos braços abertos ($t_{\text{Sociabilidade}}(24)= -0,13876$, p=0,890904) (FIGURA 3F) e na porcentagem de entradas nos braços abertos ($t_{\text{Sociabilidade}}(24)= -0,24787$, p=0,806534) (FIGURA 3G) do labirinto em cruz elevado.

Figura 3 – Resultados do Experimento 2





FONTE: A autora (2023).

LEGENDA: A) Cronograma do experimento 2. B) Correlação entre os três dias da tarefa social em machos. C) Correlação entre as três tarefas sociais das fêmeas. D) Distância total percorrida no campo aberto. E) Tempo permanecido no centro do campo aberto. F) Porcentagem de tempo permanecido nos braços abertos do labirinto em cruz elevado. G) Porcentagem de entradas nos braços abertos do labirinto em cruz elevado. H) Latência para alimentação em ambiente desconhecido. I) Latência para alimentação em ambiente familiar. J) Imobilidade nos últimos 4 minutos da natação forçada. K) Latência para imobilidade na natação forçada. CA: campo aberto. LCE: labirinto em cruz elevado. ASN: alimentação suprimida por novidade. NF: natação forçada.

No teste de alimentação suprimida por novidade, não houve efeito da sociabilidade na latência em ambiente desconhecido ($t_{Sociabilidade}$ (24)= -0,64618, p=0,52484) (FIGURA 3H) e na latência em ambiente familiar ($t_{Sociabilidade}$ (24)=0,29188, p=0,77312) (FIGURA 3I). Também não houve diferença no tempo de imobilidade nos últimos 4 minutos ($t_{Sociabilidade}$ (23)= -0,47091, p=0,64256) (FIGURA 3J) e no tempo de latência para imobilidade no teste de natação forçada ($t_{Sociabilidade}$ (23)= -0,63907, p=0,52969) (FIGURA 3K).

Dessa forma, é possível concluir que o traço de sociabilidade de um indivíduo não está relacionado com o comportamento tipo-depressivo e nem com o comportamento tipo-ansioso.

3.3 EXPERIMENTO 3: EFEITO DA SOCIABILIDADE EM UM PROTOCOLO DE ECBI

Através do teste de preferência por sacarose, foi possível verificar que o estresse não foi capaz de gerar um efeito anedônico nos camundongos ($F_{Grupo\ x\ Semana}$ (7, 126)=1,6452, p=0,12866). Além disso, não foi constatado um efeito significativo da sociabilidade ($F_{Sociabilidade\ x\ Semana}$ (7, 112)=0,89910, p=0,50992) e nem da interação entre estresse e sociabilidade ($F_{Grupo\ x\ Sociabilidade\ x\ Semana}$ (7, 112)=0,38349, p=0,91035) (FIGURA 4B e 4C).

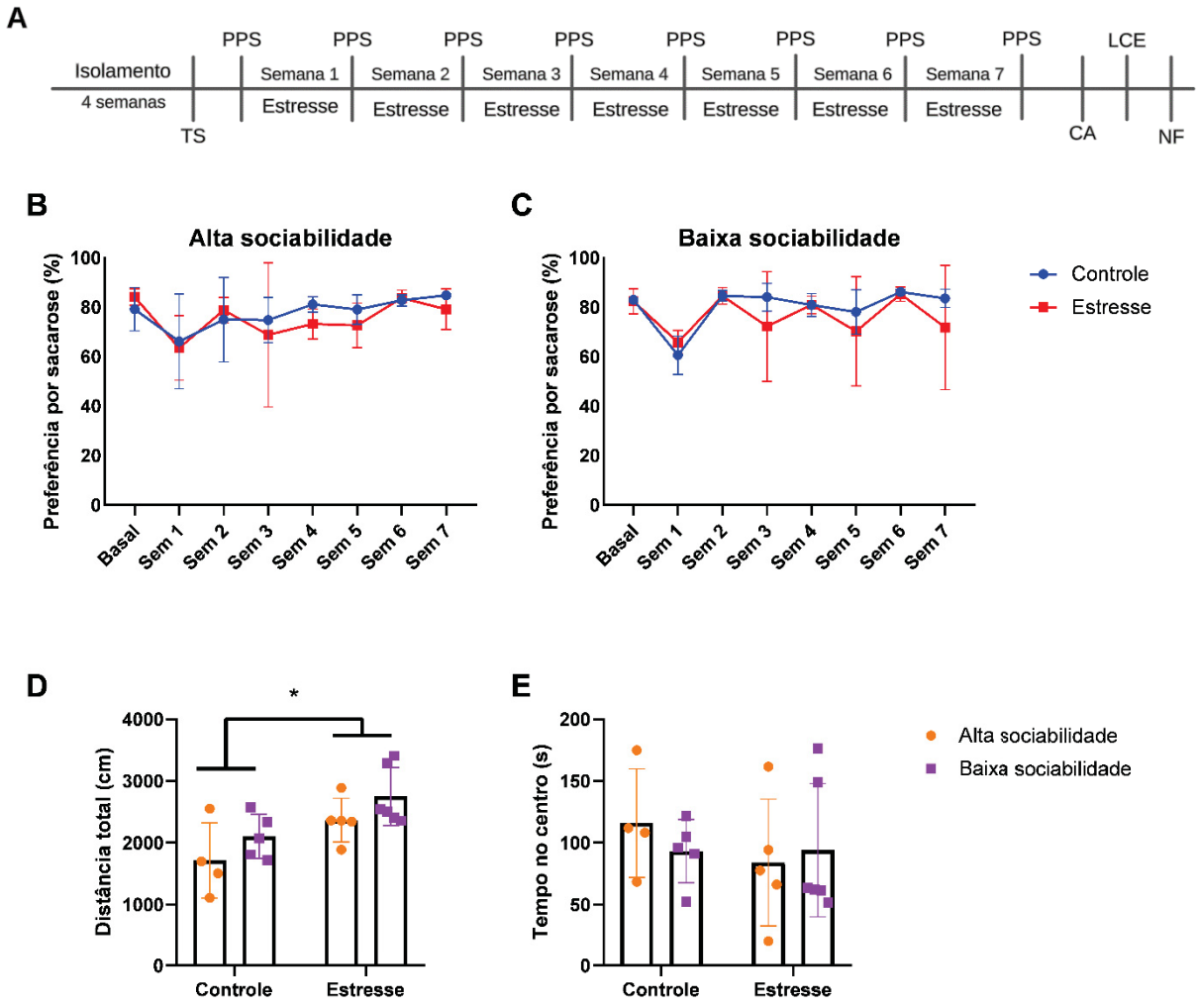
Foi visto que os animais estressados tiveram uma locomoção maior que os animais controles (F_{Grupo} (1, 16)=10,263, p=0,00554), mas não houve diferença entre sociabilidades e não houve interação de fatores ($F_{Sociabilidade}$ (1, 16)=3,6352, p=0,07469; $F_{Grupo\ x\ Sociabilidade}$ (1, 16)=0,00023, p=0,98821) (FIGURA 4D). Porém, não houve efeito do estresse, da sociabilidade e da interação entre eles no tempo no centro (F_{Grupo} (1, 16)=0,55999, p=0,46512; $F_{Sociabilidade}$ (1, 16)=0,09148, p=,76620; $F_{Grupo\ x\ Sociabilidade}$ (1, 16)=0,62520, p=0,44068) do teste de campo aberto (FIGURA 4E).

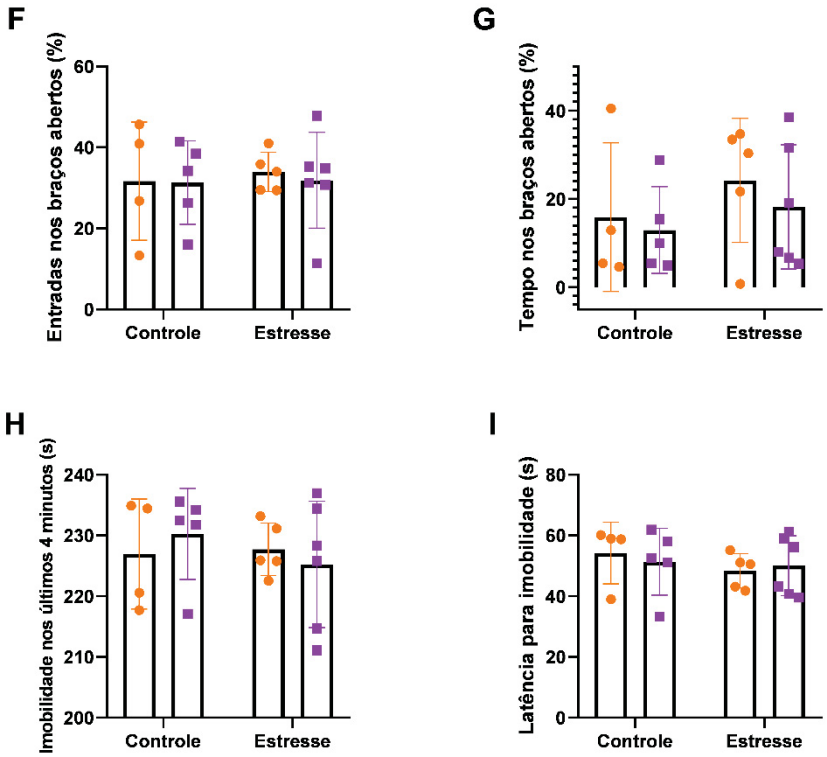
No teste de labirinto em cruz elevado, não foi visto efeito de grupo nem de sociabilidade na porcentagem de tempo nos braços abertos (F_{Grupo} (1, 16)=1,1948, p=0,29054; $F_{Sociabilidade}$ (1, 16)=0,51720, p=0,48241) (FIGURA 4G). Também não houve interação entre os grupos ($F_{Grupo\ x\ Sociabilidade}$ (1, 16)=0,06172, p=0,80696). Em relação à porcentagem de entradas nos braços abertos, também não houve diferenças significativas (F_{Grupo} (1, 16)=0,16003, p=0,69442; $F_{Sociabilidade}$ (1, 16)=0,76412, p=0,39498; $F_{Grupo\ x\ Sociabilidade}$ (1, 16)=0,16644, p=0,68870) (FIGURA 4F).

O mesmo foi visto no teste de natação forçada, em que não foi visto efeito do estresse, da sociabilidade e da interação no tempo de imobilidade nos últimos 4 minutos (F_{Grupo} (1, 16)=0,31967, p=0,57965; $F_{Sociabilidade}$ (1, 16)=0,01260, p=0,91201; $F_{Grupo\ x\ Sociabilidade}$ (1, 16)=0,60834, p=0,44680) (FIGURA 4H) e na latência ($F_{Grupo\ x\ Semana}$ (1, 16)=0,72374, p=0,40747; $F_{Sociabilidade}$ (1, 16)=0,02013, p=0,88894; $F_{Grupo\ x\ Sociabilidade}$ (1, 16)=0,28299, p=0,60205) (FIGURA 4I).

Neste experimento, não foi possível reproduzir os efeitos do estresse produzidos no Experimento 1 exceto pela distância percorrida no campo aberto. Dessa forma, não foi possível verificar se a sociabilidade está relacionada com a resiliência ao estresse.

Figura 4 – Resultados do Experimento 3





FONTE: A autora (2023).

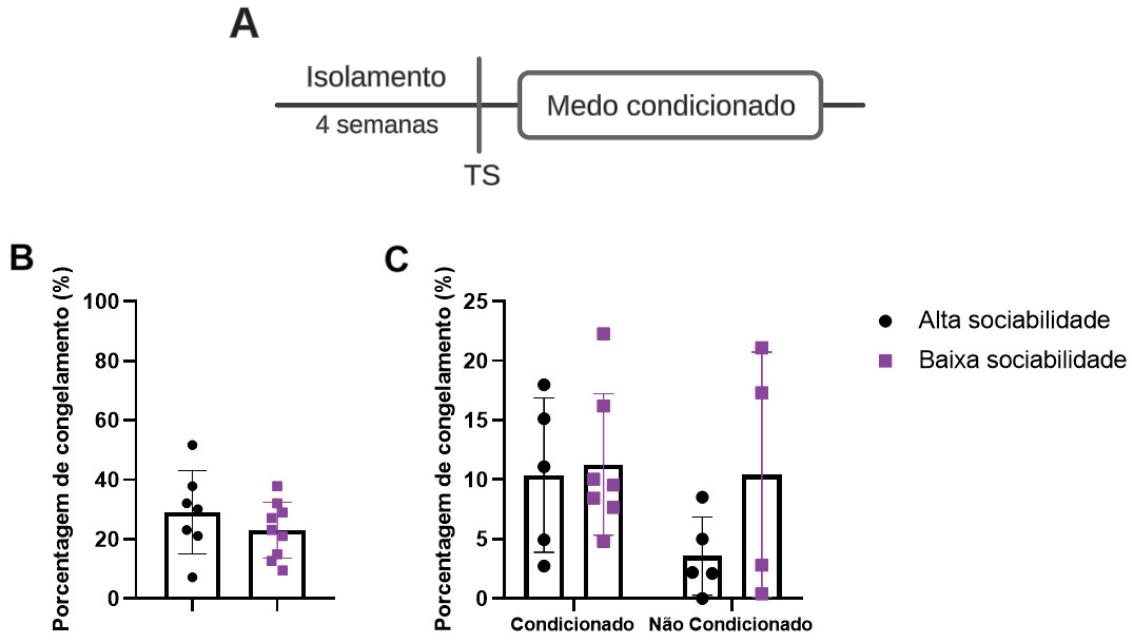
LEGENDA: A) Cronograma do experimento 3. B) Porcentagem de preferência por sacarose em animais de alta sociabilidade. C) Porcentagem de preferência por sacarose em animais de baixa sociabilidade. D) Distância total percorrida no campo aberto. E) Quantidade de tempo no centro do campo aberto. F) Porcentagem de entradas nos braços abertos do LCE. G) Porcentagem de tempo nos braços abertos do LCE. H) Tempo de imobilidade nos últimos 4 minutos da natação forçada. I) Tempo de latência para imobilidade na natação forçada. TS: tarefa social. PPS: preferência por sacarose. CA: campo aberto. LCE: labirinto em cruz elevado. NF: natação forçada. * p<0,05

3.4 EXPERIMENTO 4: EFEITO DA SOCIABILIDADE EM UM PROTOCOLO DE MEDO CONDICIONADO AO CONTEXTO COM CHOQUES DE 0.7 MA E DURAÇÃO DE 2 SEGUNDOS

Na etapa de evocação, não houve diferença significativa na porcentagem de congelamento entre animais de alta e de baixa sociabilidade ($t_{Sociabilidade}$ (12)=-0,427987, p=0,67773). Também foi visto que todos os animais tiveram uma porcentagem de congelamento abaixo de 40%, mostrando que o choque não foi forte o suficiente para causar uma maior reação de medo (FIGURA 5B). No teste de extinção, também não houve diferença significativa na porcentagem de congelamento entre animais de diferentes traços de sociabilidade ($F_{Sociabilidade}$ (1, 8)=0,82659, p=0,38983), entre animais que tiveram ou não dupla na extinção (F_{Dupla} (1, 8)=0,10237, p=0,75720; $F_{Dupla\ x\ Sociabilidade}$ (1, 8)=4,7403, p=0,06113) e entre animais

que passaram pelo condicionamento ou não ($F_{Condicionamento}$ (1, 17)=1,7020, p=0,20941; $F_{Condicionamento\ x\ Sociabilidade}$ (1, 17)=1,0135, p=0,32819) (FIGURA 5C).

Figura 5 – Resultados do Experimento 4



FONTE: A autora (2023).

LEGENDA: A) Cronograma do Experimento 4. B) Porcentagem de congelamento durante a evocação do medo condicionado. C) Porcentagem de congelamento durante o teste de extinção do medo condicionado. TS: tarefa social.

3.5 EXPERIMENTO 5: EFEITO DA SOCIABILIDADE EM UM PROTOCOLO DE MEDO CONDICIONADO AO CONTEXTO COM CHOQUES DE 0.8 MA E DURAÇÃO DE 3 SEGUNDOS

Como a porcentagem de congelamento na evocação no Experimento 4 foi baixa, neste experimento a intensidade e duração dos choques foi aumentada com o objetivo de observar um melhor condicionamento dos animais.

Na etapa de evocação não houve diferença significativa na porcentagem de congelamento entre animais de baixa e alta sociabilidade ($t_{Sociabilidade}$ (49)=1,024317, p=0,31234) (FIGURA 6A).

Na etapa de extinção, foi observado que os animais de baixa sociabilidade tiveram uma porcentagem de congelamento significativamente maior do que os animais de alta sociabilidade ($F_{Sociabilidade}$ (1, 35)=6,8878, p=,01278) (FIGURA 6B).

Também foi visto que os animais que passaram pela extinção com a presença de uma dupla, tiveram uma porcentagem de congelamento menor do que os animais que fizeram a extinção sozinhos (F_{Dupla} (1, 35)=10,168, p=0,00301) (FIGURA 6C). Não houve interação entre os fatores sociabilidade e dupla ($F_{Sociabilidade\ x\ Dupla}$ (1, 35)=0,03036, p=0,86268). Foi observado uma interação entre os fatores dupla e tempo ($F_{Dupla\ x\ Tempo}$ (5, 175)=2,7457, p=0,02049), em que os animais possuem maior tempo de congelamento nos primeiros cinco minutos em comparação aos últimos cinco minutos tanto em animais com dupla (p=0,000016) quanto em animais sem dupla (p=0,000008), também, há diferença significativa entre animais com e sem dupla nos primeiros cinco minutos da extinção (p=0,002166).

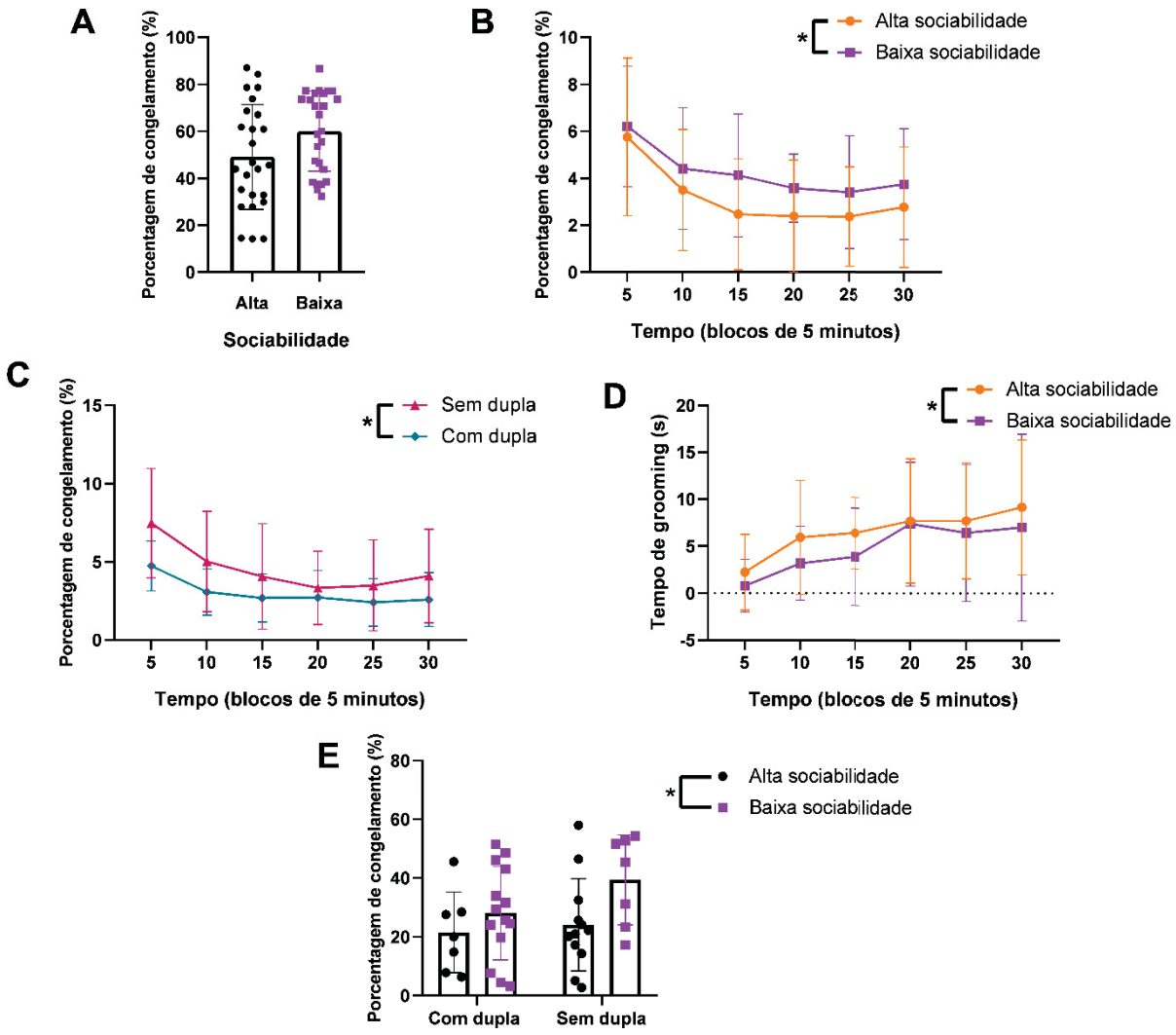
Durante a extinção, também não foi visto diferença no tempo de contato entre os animais de baixa sociabilidade e de baixa sociabilidade ($F_{Sociabilidade}$ (1, 40)=0,00668, p=0,93526), mesmo quando comparada ao longo do tempo ($F_{Sociabilidade\ x\ Tempo}$ (5, 200)=0,04160, p=0,99901). Em relação ao tempo de grooming, foi observado que animais de alta sociabilidade fazem mais grooming do que animais de baixa sociabilidade ($F_{Sociabilidade}$ (1, 35)=4,3641, p=0,04404) e que a quantidade de grooming aumenta ao longo do tempo (F_{Tempo} (5, 175)=6,1113, p=0,00003) (FIGURA 6D). Além disso, foi visto que a presença de dupla não altera a quantidade de grooming (F_{Dupla} (1, 35)=0,91761, p=0,34467), e que não há interação entre os fatores sociabilidade, tempo e dupla em relação ao grooming ($F_{Sociabilidade\ x\ Tempo}$ (5, 175)=0,25199, p=0,93837; $F_{Sociabilidade\ x\ Dupla}$ (1, 35)=0,14745, p=0,70331; $F_{Dupla\ x\ Tempo}$ (5, 175)=0,18570, p=0,96772; $F_{Sociabilidade\ x\ Dupla\ x\ Tempo}$ (5, 175)=0,82198, p=0,53554).

No teste de extinção, foi visto um efeito significativo da sociabilidade na porcentagem de congelamento ($F_{Sociabilidade}$ (1, 35)=5,3422, p=0,02682), sendo que os animais de baixa sociabilidade apresentaram maior tempo de congelamento em comparação aos de alta sociabilidade (FIGURA 6E). Porém, não foi visto diferença entre animais que fizeram ou não a extinção em dupla, tendo a porcentagem de congelamento significativamente igual (F_{Dupla} (1, 35)=1,4870, p=0,23084). Também não houve interação entre os fatores dupla e sociabilidade ($F_{Sociabilidade\ x\ Dupla}$ (1, 35)=0,49713, p=0,48543). Além disso, foi observado uma diferença significativa na porcentagem de congelamento entre os animais condicionados e os não condicionados ($F_{Condicionamento}$ (1, 56)=20,967, p=0,00003).

Com esse experimento foi possível concluir que a sociabilidade é um fator que determina a resiliência de um animal. Além disso, foi constatado que há efeito de social buffering durante a etapa de extinção, mas não sobre a memória de medo, visto

que, animais que fizeram a extinção em dupla tiveram redução de congelamento durante a extinção, mas, no teste de extinção, tiveram a mesma quantidade de congelamento que indivíduos que fizeram a extinção sozinhos.

Figura 6 – Resultados do Experimento 5



FONTE: A autora (2023).

LEGENDA: A) Porcentagem de congelamento durante a evocação do medo condicionado. B) Porcentagem de congelamento durante a extinção do medo condicionado. C) Porcentagem de congelamento durante a extinção do medo condicionado. D) Tempo de grooming durante a extinção do medo condicionado. E) Porcentagem de congelamento durante o teste de extinção do medo condicionado. * p<0,05.

4 DISCUSSÃO

Neste estudo foi observado que camundongos C57BL/6 possuem um traço de sociabilidade estável. Além disso, foi visto que o protocolo de estresse crônico brando e imprevisível não gerou efeito nos animais. Ainda, foi visto que nem camundongos de alta sociabilidade e nem de baixa sociabilidade foram mais vulneráveis ao protocolo aplicado. Também, nenhuma das sociabilidades está relacionada a um comportamento tipo-depressivo ou tipo-ansioso de forma espontânea. Além disso, foi visto que animais de baixa e alta sociabilidade se comportam de maneira diferente nas etapas de extinção e de teste de extinção do medo condicionado ao contexto.

O modelo de estresse crônico brando e imprevisível não foi capaz de gerar ou manter um comportamento tipo-depressivo. Tal resultado já havia sido observado em um protocolo de ECBI de 14 dias (BINDER et al., 2011) e de 28 dias (ZHOU et al., 2020). O ECBI é um modelo de depressão muito utilizado em vários laboratórios, porém, a reprodutibilidade dele é baixa. Um dos motivos pode ser a privação de sono causada pela aplicação de estressores na fase clara, que causa aumento na ingestão de sacarose. Assim, não é possível ver anedonia nos animais do grupo estresse. Outro fator que interfere na replicabilidade é a habituação. Apesar de o estresse ser aplicado de forma imprevisível, o animal vai ser apresentado a ele diversas vezes, ocorrendo uma dessensibilização (MARKOV & NOVOSADOVA, 2022). Isso pôde ser visto melhor no Experimento 1, em que os animais voltaram a consumir a sacarose normalmente depois de apresentarem anedonia. Outro motivo é que diferentes estressores afetam o comportamento de formas diferentes. Enquanto estresses emocionais, como a restrição de movimento, aumentam a atividade locomotora e o consumo de sacarose, o estresse físico, como o banho, induz a diminuição desses parâmetros. Assim, quando os estressores são administrados juntos, o efeito de um estressor anula o do outro. Outro fator que afeta a reprodutibilidade é a presença de fatores incontroláveis, como barulhos externos, que também funcionam como um estressor (MARKOV & NOVOSADOVA, 2022).

Durante a extinção do medo condicionado ao contexto, o grupo de baixa sociabilidade apresentou maior porcentagem de congelamento do que o grupo de alta sociabilidade. Isso foi visto durante o teste de extinção, em que os camundongos de baixa sociabilidade tiveram uma porcentagem de congelamento maior que os camundongos de alta sociabilidade durante o teste de extinção. Assim, é possível inferir que animais de baixa sociabilidade são mais vulneráveis a um modelo de medo

condicionado do que animais de alta sociabilidade. Tal resultado corrobora com estudos clínicos, que mostram que a extroversão está correlacionada positivamente com a resiliência de um indivíduo (NIETO et al., 2023; CHOI et al., 2019; SHEN et al., 2021). Porém, difere do resultado encontrado em ratos, em que os animais de alta sociabilidade se mostraram mais vulneráveis ao estresse crônico (TÕNISSAAR et al., 2008).

Um estudo demonstrou que animais de alta ansiedade traço possuem uma porcentagem de congelamento maior durante a extinção e o teste de extinção do medo condicionado do que animais de baixa ansiedade traço. Porém, durante a evocação os dois grupos se comportam de maneira semelhante (GODOY et al., 2022), assim como nos animais de diferentes sociabilidades. Dessa forma, é possível concluir que a baixa sociabilidade talvez esteja relacionada à alta ansiedade traço, mas não à alta ansiedade estado, visto que os animais de baixa sociabilidade tiveram a mesma porcentagem de tempo e entradas nos braços abertos no labirinto em cruz elevado que os animais de alta sociabilidade. Também, nenhuma das sociabilidades estão associadas intrinsicamente a um comportamento tipo-depressivo, como foi mostrado nos testes de natação forçada e de alimentação suprimida por novidade.

Os animais de alta sociabilidade apresentaram maior tempo de grooming do que os animais de baixa sociabilidade. O grooming é um comportamento estereotipado que mostra mudança no estado emocional e ocorre em situações estressantes, como o protocolo de medo condicionado (TIPPS et al., 2014). Esse comportamento pode ser utilizado como medida de estresse, ou seja, quanto maior a porcentagem de grooming, mais estressado este animal está (KALUEFF & TUOHIMAA, 2004). O grooming também pode ser interpretado como uma forma de reduzir a excitação emocional e ajudar o corpo a voltar ao estado de homeostase (DELIUS, 1967; SPRUIJT et al., 1992), além de ser uma tentativa de resistência à ansiedade provocada pelo estresse (SUN et al., 2022). Assim, é possível concluir que talvez os animais de diferente sociabilidade lidam de forma diferente com o estresse.

A ocitocina e a vasopressina são hormônios relacionados ao comportamento social (RIGNEY et al., 2022; CALDWELL, 2017; ASPÉ-SÁNCHEZ et al., 2016). A injeção desses hormônios também está relacionada a um aumento do tempo de grooming em ratos Sprague-Dawley (KAVUSHANSKY & LESHEM, 2004). Em camundongos machos, foi visto que um receptor antagonista de ocitocina era capaz de bloquear o grooming induzido pelo peptídeo anorexígeno neuromedina U (VESTLUND et al., 2020). Em ratos Wistar, a infusão de ocitocina no núcleo

paraventricular aumentou a porcentagem de grooming (VAN ERP et al., 1992). A estimulação de neurônios vasopressina do núcleo paraventricular também aumenta a porcentagem de grooming em camundongos machos (ISLAM et al., 2022), assim como a infusão de vasopressina exógena em ratos machos (ELKABIR et al., 1990). Assim, é possível inferir que talvez os animais de alta sociabilidade tenham mais estímulo de ocitocina e vasopressina e por isso tem um tempo de grooming maior do que os camundongos de baixa sociabilidade durante a extinção do medo condicionado.

Além disso, foi observado que no protocolo de medo condicionado os camundongos C57BL/6 tiveram uma porcentagem de congelamento menor do que os camundongos swiss do trabalho de Godoy e colaboradores (2022). Em um estudo feito com C57BL/6J e BALB/c, os primeiros demonstraram um comportamento mais resiliente em relação ao estresse no teste de labirinto em cruz elevado, passando menos tempo nos braços fechados (KENNEDY-WOOD et al., 2022).

Durante a extinção do medo condicionado ao contexto, os animais que possuíam uma dupla tiveram uma porcentagem de congelamento menor do que os animais que estavam sozinhos. Tal resultado já havia sido encontrado em outros estudos com ratos (WALL et al., 2024; ISHII et al., 2016) e com camundongos (GUTZEIT et al., 2020). Assim, é possível concluir que houve efeito do social buffering, e o apoio social diminuiu os efeitos adversos do estresse.

Porém, foi observado que a presença de uma dupla durante a extinção não surtiu efeito durante o teste de extinção, e a porcentagem de congelamento de indivíduos com dupla e sem dupla foi estatisticamente igual. Ou seja, o efeito do social buffering não foi duradouro. Outros estudos, incluindo estudo do nosso laboratório, já haviam demonstrado que o social buffering só provoca efeito durante a presença da dupla, mas, não tem efeito sobre a memória de medo (GORKIEWICZ et al., 2023; LAZZARIM et al., 2023).

Com esse estudo, foi possível concluir que camundongos C57BL/6 possuem um traço de sociabilidade estável. Também, foi possível observar que há uma dificuldade na reprodutibilidade do estresse crônico brando e imprevisível. Além disso, os animais de diferente sociabilidade não possuem uma vulnerabilidade maior ou menor a esse protocolo. Em relação ao medo condicionado ao contexto, foi constatado que os animais de baixa sociabilidade têm maior porcentagem de congelamento na extinção e no teste de extinção, mostrando maior vulnerabilidade. Já os animais de alta sociabilidade tiveram maior tempo de grooming, o que mostra

uma diferente forma de lidar com a exposição ao estresse. Além disso, foi visto que há efeito de social buffering na presença de uma dupla não condicionada durante a extinção, mas esse efeito não é duradouro e não promove resposta no teste de extinção.

REFERÊNCIAS

ASPÉ-SÁNCHEZ, M. et al. Oxytocin and vasopressin receptor gene polymorphisms: role in social and psychiatric traits. **Frontiers in neuroscience**, v. 9, p. 162716, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00510>. Acesso em: 23 mar. 2024.

BARTAL, I. B.; DECETY, J.; MASON, P. Empathy and pro-social behavior in rats. **Science**, v. 334, n. 6061, p. 1427-1430, 2011. Disponível em: <https://www.science.org/doi/abs/10.1126/science.1210789>. Acesso em: 07 fev. 2024.

BINDER, E. et al. Antidepressants and the resilience to early-life stress in inbred mouse strains. **Pharmacogenetics and genomics**, v. 21, n. 12, p. 779-789, 2011. Disponível em: <https://journals.lww.com/jpharmacogenetics/abstract/2011/12000/antidepressants_and_the_resilience_to_early_life.2.aspx>. Acesso em: 28 out. 2023.

CALDWELL, H. K. Oxytocin and vasopressin: powerful regulators of social behavior. **The Neuroscientist**, v. 23, n. 5, p. 517-528, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1073858417708284>. Acesso em: 22 mar. 2024.

CENTER FOR SUBSTANCE ABUSE TREATMENT et al. Trauma-informed care in behavioral health services. 2014.

CHOI, Y. et al. The relationship between levels of self-esteem and the development of depression in young adults with mild depressive symptoms. **Medicine**, v. 98, n. 42, 2019. Disponível em: <https://journals.lww.com/md-journal/fulltext/2019/10180/the_relationship_between_levels_of_self_esteem_and.34.aspx>. Acesso em: 31 jan. 2024.

CUI, R. A systematic review of depression. **Curr Neuropharmacol**, v. 13, n. 4, p. 480, 2015. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/article/69997>. Acesso em: 20 out. 2023.

DE KLOET, E. R. About stress hormones and resilience to psychopathology. **Journal of neuroendocrinology**, v. 20, n. 6, p. 885-892, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01707.x>. Acesso em: 02 fev. 2024.

DELIUS, J. D. Displacement activities and arousal. **Nature**, v. 214, n. 5094, p. 1259-1260, 1967. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/2141259a0>. Acesso em: 07 fev. 2024.

ELKABIR, D. R. et al. The effects of separate or combined infusions of corticotrophin-releasing factor and vasopressin either intraventricularly or into the amygdala on aggressive and investigative behaviour in the rat. **Regulatory peptides**, v. 28, n. 2, p. 199-214, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/0167-0115(90)90018-R>. Acesso em: 22 mar. 2024.

FAURE, A. et al. Social behaviors and acoustic vocalizations in different strains of mice. **Behavioural brain research**, v. 320, p. 383-390, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.11.003>. Acesso em: 07 fev. 2024.

GODOY, A. P. et al. High trait anxiety in mice is associated with impaired extinction in the contextual fear conditioning paradigm. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 190, p. 107602, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2022.107602>. Acesso em: 20 out. 2023.

GORKIEWICZ, T. et al. Social buffering diminishes fear response but does not equal improved fear extinction. **Cerebral Cortex**, v. 33, n. 8, p. 5007-5024, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cercor/bhac395>. Acesso em: 20 out. 2023.

GUTZEIT, V. A. et al. Optogenetic reactivation of prefrontal social neural ensembles mimics social buffering of fear. **Neuropsychopharmacology**, v. 45, n. 6, p. 1068-1077, 2020. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41386-020-0631-1>. Acesso em: 02 fev. 2024.

HARRO, J. Inter-individual differences in neurobiology as vulnerability factors for affective disorders: implications for psychopharmacology. **Pharmacology &**

Therapeutics, v. 125, n. 3, p. 402-422, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2009.11.006>. Acesso em: 07 fev. 2024.

HEINLA, I. et al. Rat ultrasonic vocalizations and novelty-induced social and non-social investigation behavior in a seminatural environment. **Physiology & Behavior**, v. 237, p. 113450, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113450>. Acesso em: 07 fev. 2024.

HORNOR, G. Resilience. **Journal of Pediatric Health Care**, v. 31, n. 3, p. 384-390, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pedhc.2016.09.005>. Acesso em: 20 out. 2023.

ISHII, A. et al. Social buffering ameliorates conditioned fear responses in female rats. **Hormones and behavior**, v. 81, p. 53-58, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2019.104654>. Acesso em: 02 fev. 2024.

ISLAM, M. T. et al. Paraventricular hypothalamic vasopressin neurons induce self-grooming in mice. **Molecular Brain**, v. 15, n. 1, p. 47, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13041-022-00932-9>. Acesso em: 22 mar. 2024.

KALUEFF, A. V.; TUOHIMAA, P. Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research. **Brain Research Protocols**, v. 13, n. 3, p. 151-158, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brainresprot.2004.04.002>. Acesso em: 07 fev. 2024.

KAVUSHANSKY, A.; LESHEM, M. Role of oxytocin and vasopressin in the transitions of weaning in the rat. **Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology**, v. 45, n. 4, p. 231-238, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/dev.20031>. Acesso em: 23 mar. 2024.

KENNEDY-WOOD, K. et al. Increased MMP-9 levels with strain-dependent stress resilience and tunnel handling in mice. **Behavioural brain research**, v. 408, p. 113288, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113288>. Acesso em: 28 out. 2023.

KIDA, S. Reconsolidation/destabilization, extinction and forgetting of fear memory as therapeutic targets for PTSD. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 1, p. 49-57, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00213-018-5086-2>. Acesso em: 02 fev. 2024.

KONDRAKIEWICZ, K. et al. Ecological validity of social interaction tests in rats and mice. **Genes, Brain and Behavior**, v. 18, n. 1, p. e12525, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/gbb.12525>. Acesso em: 07 fev. 2024.

LAMBERT, C. et al. Anhedonia in depression and schizophrenia: A transdiagnostic challenge. **CNS neuroscience & therapeutics**, v. 24, n. 7, p. 615-623, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/cns.12854>. Acesso em: 23 fev. 2023.

LARRIEU, T. et al. Hierarchical status predicts behavioral vulnerability and nucleus accumbens metabolic profile following chronic social defeat stress. **Current Biology**, v. 27, n. 14, p. 2202- 2210. e4, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.06.027>. Acesso em: 08 mar. 2022.

LAZZARIM, M. K. et al. Social buffering reduces fear expression in Wistar rats when tested in pairs, but not when retested alone. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 203, p. 107798, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2023.107798>. Acesso em: 20 out. 2023.

LECLAIR, K. B. et al. Individual history of winning and hierarchy landscape influence stress susceptibility in mice. **Elife**, v. 10, p. e71401, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.7554/eLife.71401>. Acesso em: 20 out. 2023.

LEDOUX, J. E. Coming to terms with fear. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 8, p. 2871-2878, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.140033511>. Acesso em: 20 out. 2023.

LEE, I. C. et al. Social transmission and buffering of hippocampal metaplasticity after stress in mice. **Journal of Neuroscience**, v. 41, n. 6, p. 1317-1330, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1751-20.2020>. Acesso em: 20 out. 2023.

MADISON, C. A.; WELLMAN, P. J.; EITAN, S. Response to opioids is dependent on sociability levels. **Behavioural Pharmacology**, v. 31, n. 2-3, p. 293-307, 2020. Disponível em: <https://journals.lww.com/behaviouralpharm/abstract/2020/04000/response_to_opioids_is_dependent_on_sociability.20.aspx>. Acesso em: 20 out. 2023.

MARKOV, D. D.; NOVOSADOVA, E. V. Chronic unpredictable mild stress model of depression: possible sources of poor reproducibility and latent variables. **Biology**, v. 11, n. 11, p. 1621, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biology11111621>. Acesso em: 07 fev. 2022.

MARTYNHAK, B. J. et al. Neonatal exposure to constant light prevents anhedonia-like behavior induced by constant light exposure in adulthood. **Behavioural brain research**, v. 222, n. 1, p. 10-14, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.022>. Acesso em: 08 mar. 2022.

MCEWEN, B. S.; AKIL, H. Revisiting the stress concept: implications for affective disorders. **Journal of Neuroscience**, v. 40, n. 1, p. 12-21, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0733-19.2019>. Acesso em: 02 fev. 2024.

MCEWEN, B. S. et al. Mechanisms of stress in the brain. **Nature neuroscience**, v. 18, n. 10, p. 1353-1363, 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nn.4086>. Acesso em: 20 out. 2023.

MÉNARD, C.; HODES, G. E.; RUSSO, S. J. Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studies. **Neuroscience**, v. 321, p. 138-162, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.05.053>. Acesso em: 08 mar. 2022.

MIKAMI, K. et al. Social buffering enhances extinction of conditioned fear responses in male rats. **Physiology & behavior**, v. 163, p. 123-128, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2019.104654>. Acesso em: 20 out. 2023.

MONLEON, S. et al. Attenuation of sucrose consumption in mice by chronic mild stress and its restoration by imipramine. **Psychopharmacology**, v. 117, n. 4, p. 453-457,

1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02246218>. Acesso em: 08 mar. 2022.

MORELLO, N et al. Effects of forced swimming stress on ERK and histone H3 phosphorylation in limbic areas of Roman high-and low-avoidance rats. **PLoS One**, v. 12, n. 1, p. e0170093, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170093>. Acesso em: 20 out. 2023.

NIETO, M. et al. Relation between resilience and personality traits: The role of hopelessness and age. **Scandinavian Journal of Psychology**, v. 64, n. 1, p. 53-59, 2023. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/sjop.12866>. Acesso em: 31 jan. 2024.

OSÓRIO, Carlos et al. Adapting to stress: understanding the neurobiology of resilience. **Behavioral Medicine**, v. 43, n. 4, p. 307-322, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/08964289.2016.1170661>. Acesso em: 20 out. 2023.

PEEN, N. F.; DUQUE-WILCKENS, N.; TRAINOR, B. C. Convergent neuroendocrine mechanisms of social buffering and stress contagion. **Hormones and behavior**, v. 129, p. 104933, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2021.104933>. Acesso em: 20 out. 2023.

POLLAK, D. D.; REY, C. E.; MONJE, F. J. Rodent models in depression research: classical strategies and new directions. **Annals of medicine**, v. 42, n. 4, p. 252-264, 2010. Disponível em: < https://doi.org/10.3109/07853891003769957>. Acesso em: 08 mar. 2022.

RIGNEY, N. et al. Oxytocin, vasopressin, and social behavior: from neural circuits to clinical opportunities. **Endocrinology**, v. 163, n. 9, p. bqac111, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/endocr/bqac111>. Acesso em: 23 mar. 2024.

RUTTER, M. Implications of resilience concepts for scientific understanding. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1094, n. 1, p. 1-12, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1196/annals.1376.002>. Acesso em: 20 out. 2023.

RUSSO, S. J.; MURROUGH, J. W.; HAN, M. H.; CHARNEY, D. S.; NESTLER, E. J. Neurobiology of resilience. **Nature neuroscience**, v. 15, n. 11, p. 1475-1484, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nn.3234>. Acesso em: 08 mar. 2022.

RYGULA, R.; PAPCIAK, J.; POPIK, P. Trait pessimism predicts vulnerability to stress-induced anhedonia in rats. **Neuropsychopharmacology**, v. 38, n. 11, p. 2188-2196, 2013. Disponível em: < https://doi.org/10.1038/npp.2013.116>. Acesso em: 08 mar. 2022.

SCHÖNER, J. et al. Post-traumatic stress disorder and beyond: an overview of rodent stress models. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 21, n. 10, p. 2248-2256, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jcmm.13161>. Acesso em: 20 out. 2023.

SHEN, Sitong et al. Remote and adjacent psychological predictors of early-adulthood resilience: Role of early-life trauma, extraversion, life-events, depression, and social-support. **Plos one**, v. 16, n. 6, p. e0251859, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251859>. Acesso em: 31 jan. 2024.

SPRUIJT, B. M.; VAN HOOFF, J. A.; GISPEN, W. H. Ethology and neurobiology of grooming behavior. **Physiological reviews**, v. 72, n. 3, p. 825-852, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.3.825>. Acesso em: 07 fev. 2024.

SUN, J. et al. Excitatory SST neurons in the medial paralemniscal nucleus control repetitive self-grooming and encode reward. **Neuron**, v. 110, n. 20, p. 3356-3373. e8, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.08.010>. Acesso em: 07 fev. 2022.

TIPPS, M. E. et al. Delay and trace fear conditioning in C57BL/6 and DBA/2 mice: issues of measurement and performance. **Learning & Memory**, v. 21, n. 8, p. 380, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4105718/>. Acesso em: 02 fev. 2024.

TÕNISSAAR, M. et al. Sociability trait and serotonin metabolism in the rat social interaction test. **Neuroscience letters**, v. 367, n. 3, p. 309-312, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.06.023>. Acesso em: 07 fev. 2024.

TÕNISSAAR, M.; HERM, L.; ELLER, M.; KÕIV, K.; RINKEN, A.; HARRO, J. Rats with high or low sociability are differently affected by chronic variable stress. **Neuroscience**, v. 152, n. 4, p. 867-876, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.01.028>. Acesso em: 08 mar. 2022.

TORRES-BERRÍO, A. et al. MiR-218: a molecular switch and potential biomarker of susceptibilityto stress. **Molecular psychiatry**, v. 25, n. 5, p. 951-964, 2020. Disponível em:<https://doi.org/10.1038/s41380-019-0421-5>. Acesso em: 08 mar. 2022.

VAN ERP, A. M. M. et al. Initiation of self-grooming in resting rats by local PVH infusion of oxytocin but not α-MSH. **Brain research**, v. 607, n. 1-2, p. 108-112, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)91494-D>. Acesso em: 23 mar. 2024.

VESTLUND, J. et al. Neuromedin U induces self-grooming in socially-stimulated mice. **Neuropharmacology**, v. 162, p. 107818, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107818>. Acesso em 23 mar. 2024.

WALL, E. K. et al. Effects of social buffering on fear extinction in adolescent rats. **Behaviour Research and Therapy**, v. 173, p. 104457, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.brat.2023.104457>. Acesso em: 02 fev. 2024.

WEGER, M.; SANDI, C. High anxiety trait: a vulnerable phenotype for stress-induced depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 87, p. 27-37, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.01.012>. Acesso em: 08 mar. 2022.

WILLNER, Paul et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. **Psychopharmacology**, v. 93, p. 358-364, 1987. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00187257>. Acesso em: 23 fev. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Depression and other common mental disorders: global health estimates. **World Health Organization**, 2017.

ZHOU, L. et al. Long-term maternal separation potentiates depressive-like behaviours and neuroinflammation in adult male C57/BL6J mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 196, p. 172953, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.172953>. Acesso em: 28 out. 2023.